

For research use only

Version Number: 2.1

Blood DNA Midi Kit

For genomic DNA purification from whole blood using 1-5 mL blood

试剂盒组成	DE-05121
	50 T
Buffer BL1	25 mL
Buffer BL2 *	25 mL
Buffer DC	500 mL
Buffer PW *	25 mL
Buffer WB1	15 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease Plus	1 mL × 2
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

*: Buffer BL2、Buffer PW 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品简介

本试剂盒采用全新的 Foregene Protease Plus 以及独特的 BL1、BL2 缓冲体系，可以在最短时间内完全消化抗凝血液和凝血样本，从而最大程度上避免了 DNA 的降解以及获得最大量的基因组 DNA。快速的血液处理系统，简便的离心柱操作，大大简化了血液基因组的提取，使得 40 min 内即可得到高质量、高纯度的基因组 DNA。

本试剂盒离心柱采用的 DNA-only 硅胶膜为本公司特有新型材料，高效、特异吸附 DNA，可最大限度的去除 RNA、杂质蛋白、离子及细胞中其他有机化合物。获得的 DNA 片段大，纯度高、质量稳定可靠，一个离心柱的最大承载量为 80 µg DNA。获得的 DNA 可用于酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等分子生物学实验。

试剂盒单次可以处理最多 5 mL 血液，获得足够量的高纯度基因组 DNA。

储存条件

- ❖ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。
- ❖ Foregene Protease Plus 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其

活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ❖ 建议使用 EDTA 作为血液抗凝剂。
- ❖ 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也会下降。
- ❖ 使用前，仔细检查 Buffer BL1、Buffer BL2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ❖ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB1 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB1 在使用前添加 60 mL 无水乙醇(DE-05121)。
- ❖ 洗脱体积：Buffer EB 不应少于 100 µL，否则会影响 DNA 产量。
- ❖ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ❖ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

材料取用说明

- ❖ 无核抗凝血液：单次处理，用量请勿超过 5 mL。
- ❖ 有核抗凝血液：单次处理，用量请勿超过 0.5 mL。

操作步骤

使用前请先在 Buffer WB1 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 样品处理

- 1a 无核红细胞抗凝血液：往 15 mL 离心管中加入 1-5 mL 血液样本，加入 2 倍体积的 Buffer DC，上下颠倒混匀，4,000 rpm 离心 10 min，小心倒掉上清，再加入 500 µL Buffer BL1，震荡至彻底混匀，进行步骤 2。
- 1b 有核红细胞抗凝血液：往 2 mL 离心管中加入 50-500 µL 抗凝血，再加入 500 µL Buffer BL1，进行步骤 2。

- 向混合液中加入 **40 μ L Foregene Protease Plus**, 颠倒混匀, 于 **65 $^{\circ}$ C** 放置 **10 min**。
- 向混合液中, 加入 **500 μ L Buffer BL2**, 涡旋混匀至分层消失, 于 **65 $^{\circ}$ C** 放置 **10 min**, 期间涡旋混匀数次, 溶液应变清亮。

注意: 在温育过程中涡旋混匀数次, 以保证细胞裂解充分。若溶液未变清亮, 说明细胞裂解不彻底, 可适当延长时间。样本储存条件不佳时, 水浴或金属浴处理后颜色可能为深褐色, 注意溶液中应无团块等沉淀。

- 加入 **300 μ L 无水乙醇**, 涡旋震荡混匀, 此时可能会出现絮状沉淀。
- 将 **800 μ L 混合液**转移至离心柱 (DNA-Only Column) 中, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**离心 **1 min**, 弃掉收集管中的废液。

注意: 如果混合液中出现絮状沉淀, 请将沉淀一并转移至离心柱中。

- 将离心柱放回收集管中, 将剩余混合液全部加入离心柱中, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**, 离心 **1 min**, 弃掉收集管中的废液。
- 往离心柱中加入 **500 μ L Buffer PW**, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**离心 **30 sec - 1 min**, 弃掉收集管中的废液。
- 往离心柱中加入 **700 μ L Buffer WB1**, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**离心 **30 sec - 1 min**, 弃掉收集管中的废液。
- 重复步骤 8 一次。
- 将离心柱放回收集管中, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**空管离心 **1 min**。
- 将离心柱移至新的 2 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **100 μ L 已于 65 $^{\circ}$ C 预热的 Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5min, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**离心 **1 min**。再次向膜中央悬空滴加 **100 μ L 已预热的 Buffer EB**, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**离心 **1 min**。将两次收集的洗脱液合并。

注意: 如果希望提高 DNA 的浓度, 可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中, **12,000 rpm (~13,400 \times g)**离心 **1 min**。

